



発生期腎臓におけるangiogenesisの解析および腎組織の再構築

| | |
|--------|---|
| 著者 | 西村 裕介 |
| 発行年 | 2016 |
| 学位授与大学 | 筑波大学 (University of Tsukuba) |
| 学位授与年度 | 2015 |
| 報告番号 | 12102甲第7777号 |
| URL | http://hdl.handle.net/2241/00143477 |

| | | | |
|---------|--------------------------------------|--------|--------|
| 氏名 | 西村 裕介 | | |
| 学位の種類 | 博 士（生物工学） | | |
| 学位記番号 | 博 甲 第 7777 号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成 28年 3月 25日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | |
| 審査研究科 | 生命環境科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | 発生期腎臓における angiogenesis の解析および腎組織の再構築 | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 工学博士 | 王 碧昭 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 理学博士 | 中村 幸治 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士(学術) | 中島 敏明 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士(理学) | 山田 小須弥 |

論 文 の 要 旨

慢性腎不全の治療法として、人工透析や腎臓移植があるが、根治する治療法だとは言えない。これらの問題を克服するために再生医療が注目を集めている。しかし、組織工学を用いても複雑構造を持つ腎組織の再構築に最大な問題点は、腎臓内に複雑血管網が存在しており、これを正確に構築することは困難である。本研究は腎血管の構築を最終目的とし、発生腎の血管新生機序から解析を始め、最終的に *in vitro* の腎組織を再構築した。

腎血管の発生機構には二つの理論説ある。一つは発生腎内の間葉系細胞が分化し腎血管が形成される *vasculogenesis* 説であり、もう一つは背側大動脈が発生腎に侵入し腎血管を形成していく *angiogenesis* 説である。前者は数多くの研究に報告されたが、後者は僅かの報告しかない。殆どは解析技術が欠乏するため、*angiogenesis* が腎臓発生中期に出現するといった推測であり、決定的な根拠は明らかになっていない。本研究は *angiogenesis* の可視化観測を可能にする技術を試み、血管鋳型と墨注入といった独特な方法を開発し、マウス腎発生中期から遡り、初期に背側大動脈からの出芽が発生腎内へ進入する時期を特定できた。この結果は従来の論説より早い時期に大血管が腎臓に進入することを実証し、腎血管形成の時空間的な解明は学術的に意味深いと考えられる。さらに *angiogenesis* が腎発生初期での役割と必要性を明らかにするため、大血管が豊富に存在するマウス大腿部位と大血管が欠乏する背側部位に移植し、両者を比較した。その結果、*angiogenesis* の存在は腎血管の形成、血管網の構築に機能するのみならず、腎臓組織細胞の分化・成熟にも関わることが明らかにした。また、気液相共存の *in vitro* 培養系を設計し、大血管血流に存在する代表的な成長因子を初期発生腎に添加培養したことにより、尿管芽の分岐・伸長および糸球体の複数種類の細胞分化及び血管網形成を促進することを実証した。さらに腎組織の構築を挑戦するため、哺乳類胎児を育成する羊水環境をミミックする微小重力の物理条件を培養系に導入し、マウス腎臓原基から分離した複数の細胞が巨大化スフェロイドを形成した後、*angiogenesis* 移植を併用した。その巨大化スフェロイドが尿細管と糸球体に分化し、濾過機能を持つ腎組織への構築に成功した。

審 査 の 要 旨

本研究は angiogenesis を目視可能な新規方法を開発し、従来推測された腎臓大血管形成の発生中期より早い時期に既に angiogenesis が存在することを初めて明らかにしたため、腎血管形成の時空間的な解明は学術的に意味深いと考えられる。また angiogenesis は臓器発生時、血管網の形成への促進効果のみならず、臓器細胞から組織への分化・成熟にも促すことを明らかになった。さらに胎児環境をミミックする微小重力の物理条件を導入し、in vitro 培養系及び in vivo の angioneogenesis 進入の併用を考案し、人為的に困難である複雑腎臓の構築に成功した。本研究で得られた知見により、腎細胞からネフロン組織を形成する方法が提唱され、今後 ES, iPS 細胞から再生医療へ応用する道が拓かれ、新たな臓器構築法が期待される。

平成28年1月26日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。